

PENGARUH PEMBERIAN KOPI TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA TIKUS WISTAR YANG DIPAPAR SINAR ULTRAVIOLET

Koo Melyza Hartono¹, Mahayu Dewi Ariani², Dhega Anindita Wibowo²

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang - Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang : Sinar UV adalah salah satu penyebab timbulnya radikal bebas yang dapat mengganggu motilitas spermatozoa. Kafein yang terdapat dalam kopi dapat meningkatkan produksi cAMP untuk merangsang motilitas spermatozoa. Asam klorogenat pada kopi berperan sebagai antioksidan.

Tujuan : Membuktikan pengaruh pemberian kopi terhadap motilitas spermatozoa tikus wistar jantan yang dipapar sinar ultraviolet.

Metode : Penelitian ini menggunakan *post test only control group design*. Sampel terdiri dari 28 ekor tikus wistar jantan yang dikelompokkan menjadi 4 kelompok secara random. Kelompok K(-) adalah kelompok tanpa perlakuan. Kelompok K(+) hanya diberi paparan sinar UV. Kelompok P1 dipapar sinar UV dan diberi kopi dengan dosis 180mg/3ml/hari. Kelompok P2 dipapar sinar UV dan diberi kopi dengan dosis 360mg/3ml/hari. Perlakuan diberikan selama 30 hari dan pada hari ke-31 semua tikus diterminasi dan diperiksa motilitas spermatozoanya.

Hasil : Rerata motilitas spermatozoa adalah kelompok K(-)= 32,5; kelompok K (+)= 11,67; kelompok P1= 40; kelompok P2= 51,67. Uji *Oneway ANOVA* didapatkan perbedaan bermakna pada motilitas spermatozoa pada semua kelompok. Uji *Post Hoc* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K(-) dengan kelompok K(+) ($p=0,002$), kelompok K(+) dengan kelompok P1 ($p=0,000$), dan kelompok K(+) dengan kelompok P2 ($p=0,000$). Sedangkan antar kelompok perlakuan P1 dan P2 terdapat perbedaan yang tidak bermakna.

Simpulan : Pemberian kopi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan motilitas spermatozoa tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV.

Kata kunci : Sinar UV, kopi, motilitas spermatozoa, kafein, asam klorogenat

ABSTRACT

THE EFFECT OF COFFEE TO THE SPERM MOTILITY OF WISTAR RATS WITH ULTRAVIOLET

Background : Ultraviolet is one of free radical cause factor that can interfere sperm motility. The caffeine present in coffee increases cAMP production that stimulates spermatozoa movement. Chlorogenic acid in coffee acts as a potential source of antioxidant.

Objective : This experimental research aims to validate the effect of coffee ingestion and exertion of Ultraviolet radiation on male wistar rats' sperm motility.

Method : Random sampling and posttest only control group design were adapted for this study. A sample of 28 wistar rats were chosen and divided into 4 groups, Control -/+ and Group P1/P2. All samples are given standard meals. Control (-) negative was the baseline ;

Control (+) positive was exposed to ultraviolet radiation only ; Group P1 was exposed to ultraviolet radiation and coffee consumption of 180mg/3ml/day ; Group P2 was exposed to ultraviolet radiation and coffee consumption of 360mg/3ml/day. This experimental research was carried out for a period of 30 days. On day 31, all samples were terminated and its sperm motility were examined.

Result: Mean of sperm motility in sample groups post intervention : group K(-) = 32,5 ; group K (+) = 11,67 ; group P1 = 40 ; group P2 = 51,67. Oneway ANOVA test showed statistically significant difference in sperm motility in all sample groups. Post Hoc test showed significant difference between experimental Group K(-) and K (+) ($p=0,002$), Group K(+) and P1 ($p=0,000$), Group K(+) and P2 ($p=0,000$). Otherwise, there was no significant effect among Group P1 and P2.

Conclusion: The administration of coffee in experimented wistar rats topped with exertion of Ultraviolet radiation promotes significant improvement in sperm motility.

Keywords: Ultraviolet, coffee, sperm motility, caffeine, chlorogenic acid

PENDAHULUAN

Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan suami istri seksual aktif dan tidak memakai alat kontrasepsi untuk hamil dalam kurun waktu satu tahun.¹ Menurut *World Health Organization* (WHO), satu dari empat pasang suami istri di negara berkembang merupakan pasangan yang infertil.² Sedangkan menurut Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia (POGI), dari tahun 1980-2015 tingkat infertilitas negara berkembang meningkat dari 10-15% menjadi 20%.³

Infertilitas dapat terjadi karena faktor dari wanita dan faktor dari laki-laki. Faktor laki-laki ini penting karena sebesar 30-40% infertilitas disebabkan oleh laki-laki dimana kebanyakan karena menurunnya kualitas dari sperma.⁴ Kualitas sperma yang menurun dapat disebabkan karena perbuatan manusia seperti gaya hidup yang tidak sehat yaitu merokok dan minum alkohol. Selain itu, pekerjaan juga dapat mempengaruhi misalnya pada paramedis yang terpapar sinar-x terlalu lama, petani yang terpapar pestisida, dan orang yang bekerja di luar yang setiap hari terpapar sinar ultraviolet (UV).

Paparan sinar ultraviolet yang terlalu lama akan mengganggu kesehatan manusia. Sinar UV A akan berkontribusi dalam terjadinya kanker kulit dan secara tidak langsung akan mengakibatkan kerusakan pada *deoxyribonucleic acid* (DNA). Sinar UV B juga akan menyebabkan terjadinya berbagai kanker kulit dan secara langsung mengakibatkan kerusakan pada DNA. Katarak dan imunosupresi juga dapat terjadi akibat paparan sinar ultraviolet yang terlalu lama.⁵ Selain itu, sinar ultraviolet yang terpapar lama pada tubuh juga akan mempengaruhi fertilitas pada laki-laki. Sinar ultraviolet memiliki peran dalam meningkatkan

level dari *reactive oxygen species* (ROS) pada spermatozoa yang terpapar dengan sinar UV B. ROS akan menurunkan motilitas dan tingkat fertilitas seseorang.⁶

Tidak semua orang dapat menghindari aktivitas yang menyebabkan terpaparnya sinar ultraviolet yang terlalu lama, misalnya pekerja yang sehari-hari aktivitasnya di luar ruangan. Oleh karena itu, peningkatan ROS yang berlebihan dalam tubuh manusia harus dicegah atau diatasi. Pemberian antioksidan sudah terbukti untuk mencegah terbentuknya ROS.⁷ Antioksidan dapat ditemukan dalam berbagai macam makanan dan minuman seperti pada makanan yang mengandung vitamin C, mengandung vitamin E, dan kopi.

Kopi adalah salah satu minuman yang disukai orang. Kebanyakan orang mengonsumsi kopi setiap harinya untuk membuatnya terjaga. Selain itu, kopi juga sering dikonsumsi saat berkumpul dengan orang lain dilihat dari banyaknya warung kopi atau tempat-tempat yang menjual kopi saat ini.

Kopi mengandung senyawa kompleks yaitu kafein dan asam klorogenat.⁸ Kafein merupakan zat diuretik yang akan menstimulasi sistem saraf pusat sehingga konsumsi kafein dapat menyebabkan orang menjadi terbangun dan terjaga selama beberapa saat.⁹ Kafein juga merangsang pergerakan dari spermatozoa. Sedangkan asam klorogenat berperan sebagai antioksidan.¹⁰

Berdasarkan penelitian sebelumnya, penggunaan kopi yang berfungsi sebagai antioksidan meningkatkan kualitas spermatozoa.⁷ Oleh karena belum adanya penelitian mengenai pengaruh kopi setelah diberi paparan sinar ultraviolet maka perlu diadakan penelitian mengingat pentingnya kopi dan seringnya konsumsi kopi dalam kehidupan sehari-hari. Penelitian juga perlu dikaitkan dengan paparan sinar ultraviolet yang saat ini semakin banyak masuk ke permukaan bumi karena terjadinya penipisan lapisan ozon pada atmosfer bumi.

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan masalah penelitian ini adalah apakah ada pengaruh dalam pemberian kopi terhadap motilitas spermatozoa tikus wistar yang dipapar sinar ultraviolet?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi terhadap motilitas spermatozoa tikus wistar yang dipapar sinar ultraviolet.

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi dan mengetahui manfaat kopi untuk meningkatkan kualitas spermatozoa dan memberikan informasi yang bermanfaat untuk penelitian selanjutnya.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian experimental dengan *post test only control group design*. Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus federer, terdiri dari 28 ekor tikus wistar yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang, umur 8-9 minggu, tidak ada kelainan anatomi, diadaptasi selama satu minggu, dan diberi pakan standar serta minum secara *ad libitum*. Setelah diadaptasi, 28 ekor tikus dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus yang ditentukan secara acak.

Tabel 1. Intervensi setiap kelompok

	Kelompok K (-)	Kelompok K (+)	Kelompok P1	Kelompok P2
Paparan Sinar UV		v	v	v
Kopi 180mg/3ml			v	
Kopi 360mg/3ml				v

Perlakuan diberikan selama empat minggu sesuai pembagian kelompok. Larutan kopi robusta diberikan dengan menggunakan sonde lambung dan paparan sinar ultraviolet diberikan selama 3 jam/hari dengan memasukkan kelompok yang diberi paparan sinar ultraviolet tersebut ke dalam ruangan yang sudah dipasang lampu TL *fluorescent*. Perlakuan berlangsung selama 30 hari dan pada hari ke 31 tikus diterminasi kemudian diambil spermatozoa. Pembuatan preparat dan pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok dengan cara mengambil spermatozoa dari vas deferens, diklem, kemudian dipotong. Lalu diambil spermanya dengan cara dipencet dan ditetesi NaCl 0,9% sebanyak 2 tetes, diaduk agar menjadi homogen. Sperma diletakkan di atas *object glass* ditutup dengan *deck glass* dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10x pada lima lapang pandang untuk setiap preparat.¹⁵ Menurut WHO tahun 2010, kriteria motilitas dibagi menjadi 3 yaitu¹⁶ :

1. Motilitas progresif : spermatozoa bergerak secara aktif, secara linear atau lingkaran yang besar
2. Motilitas yang tidak progresif : semua motilitas yang tidak progresif seperti bergerak dalam lingkaran yang kecil, hanya menggerakkan bagian kepala spermatozoa, atau ekor spermatozoa saja yang bergerak.
3. Imotilitas : tidak bergerak

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian eksperimental laboratorium yaitu berupa gambaran motilitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) kriteria progresif. Data yang diperoleh dari empat kelompok sampel diolah menggunakan program komputer SPSS.

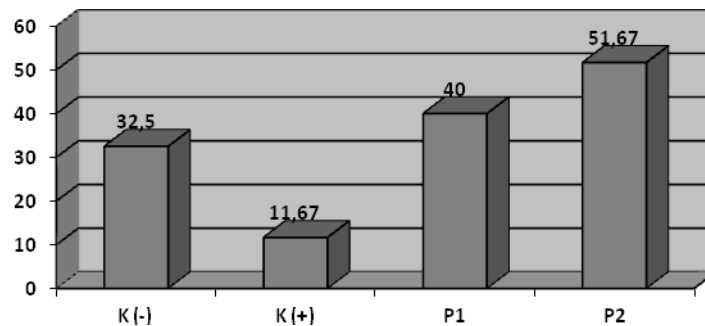
HASIL

Populasi penelitian menggunakan tikus wistar jantan sebanyak 28 ekor yang sesuai dengan kriteria inklusi dan dibagi menjadi empat kelompok. Setiap kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus yang diambil secara acak. Jumlah ini sesuai dengan rumus federer yang telah dihitung sebelumnya dimana minimal tikus sebanyak enam ekor dalam setiap kelompoknya.

Selama penelitian berlangsung tidak terdapat tikus yang mati sehingga semua tikus dapat diambil dan digunakan datanya. Namun, dari setiap kelompok, satu ekor tikus dieksklusi dan hanya diambil enam ekor tikus yang terlihat aktif.

Tabel 2. Persentase motilitas spermatozoa tikus wistar jantan kriteria progresif

Kelompok	N	Rerata	SD	Minimal	Maksimal
K (-)	6	32,50	12,145	20	55
K (+)	6	11,67	10,328	0	25
Sinar UV + 180mg/3ml	6	40,00	4,472	35	45
Sinar UV + 360mg/3ml	6	51,67	12,517	30	65



Gambar 1. Diagram motilitas spermatozoa tikus wistar kriteria progresif tiap kelompok

Keterangan:

K (-) : kelompok tanpa perlakuan

K(+) : kelompok yang hanya diberi sinar UV

P1 : kelompok yang diberi sinar UV dan kopi 180mg/3ml

P2 : kelompok yang diberi sinar UV dan kopi 360mg/3ml

Dari diagram di atas menunjukkan bahwa terjadi penurunan motilitas pada K (+) yang merupakan kelompok yang hanya diberi sinar UV. Sedangkan pada P1 dan P2 yang merupakan kelompok yang diberi sinar UV dan kopi, motilitas spermatozoa dapat dipertahankan.

Selanjutnya, data motilitas dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilks* karena jumlah sampel yang kecil. Hasil dari uji tersebut didapatkan distribusi data yang normal dan varian data yang homogen maka digunakan uji parametrik yaitu uji *One-Way Anova*. Pada uji tersebut didapatkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok karena nilai $p < 0,05$. Kemudian, untuk melihat perbedaan yang bermakna antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu uji LSD dengan hasil seperti tabel 3.

Tabel 3. Perbedaan bermakna antar kelompok pada uji *Post-Hoc* LSD

	K (-)	K (+)	P1	P2
K (-)	-	0,002*	0,225	0,005*
K (+)	0,002*	-	0,000*	0,000*
P1	0,225	0,000*	-	0,066
P2	0,005*	0,000*	0,066	-

Keterangan:

K (-) : kelompok tanpa perlakuan

K(+) : kelompok yang hanya diberi sinar UV

P1 : kelompok yang diberi sinar UV dan kopi 180mg/3ml

P2 : kelompok yang diberi sinar UV dan kopi 360mg/3ml

* : bermakna ($p < 0,05$)

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada K(-) dengan K (+) ($p=0,002$). Terdapat perbedaan bermakna K(-) dengan P2 ($p=0,005$). Selain itu, juga terdapat perbedaan yang bermakna antara K(+) dengan P1 dan P2 ($p=0,000$). Namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara P1 dan P2 ($p=0,066$).

PEMBAHASAN

Sinar UV adalah salah satu jenis radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal bebas yang terlalu banyak di dalam tubuh dapat menyebabkan metabolisme oksigen yang berlebihan dalam tubuh dan menyebabkan stres oksidatif. Hal ini akan menyebabkan dampak yang buruk bagi tubuh.¹¹

Pada penelitian ini didapatkan bahwa paparan sinar UV dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Hal ini terlihat dari rerata pada kelompok kontrol positif (K(+)) menurun dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K(-)). Kemudian, setelah diuji dengan menggunakan uji *Post-Hoc* LSD terdapat perbedaan bermakna pada persentase motilitas spermatozoa kelompok K(+) dibandingkan dengan kelompok K(-) ($p=0,002$). Hasil penelitian ini memperkuat penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Amaral dkk tahun 2013 yang menyatakan bahwa paparan sinar UV menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa terutama motilitas spermatozoa.¹²

Sinar UV yang merupakan radikal bebas akan menyebabkan terbentuknya ROS. Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh akan menimbulkan dampak yang dapat berbahaya bagi sel karena dapat menyebabkan kematian pada sel dengan cara merusak lipid, protein atau bahkan DNA dalam sel.¹³

Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh peningkatan ROS di dalam tubuh. Spermatozoa dapat bergerak karena adanya ATP yang berfungsi untuk memberikan energi pada flagel spermatozoa untuk bergerak. Akan tetapi, ROS menyebabkan penurunan ATP pada spermatozoa karena organel yang menghasilkan ATP pada spermatozoa rusak oleh ROS yaitu mitokondria. Mitokondria merupakan organel yang memproduksi sekaligus menjadi target utama dari ROS. Jika mitokondria rusak maka ATP yang dihasilkan akan menurun sehingga menyebabkan motilitas spermatozoa juga akan menurun.^{6,12,13}

Pemberian kopi pada tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV mengalami peningkatan persentase motilitas spermatozoa. Hal ini terlihat dari rerata kelompok perlakuan yang dipapar sinar UV dan diberi kopi yaitu P1 dan P2 mengalami peningkatan dibandingkan K(+). Kemudian setelah diuji dengan menggunakan uji *Post-Hoc* LSD, terdapat perbedaan yang bermakna pada motilitas spermatozoa kelompok K(+) dengan kelompok P1 dan P2. Perbedaan yang bermakna tersebut ditunjukkan dengan nilai $p=0,000$ baik pada K(+) dengan P1 dan K(+) dengan P2. Selain itu, pada hasil penelitian juga dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara K(-) dengan P2 dimana nilai $p=0,005$.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Ayu L. Dja'afara dkk tahun 2015 dimana kopi memiliki kemampuan untuk meningkatkan motilitas spermatozoa. Kandungan pada kopi yaitu asam klorogenat dan kafein berperan untuk meningkatkan motilitas. Asam klorogenat adalah senyawa polifenol terbesar yang terdapat dalam biji kopi. Senyawa polifenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi DNA, lipid dan protein dengan melawan radikal bebas. Asam klorogenat ini bekerja dengan cara menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan hidrogen dari gugus hidroksilnya. Oleh karena itu, kekurangan elektron dalam radikal bebas dapat diatasi sehingga dampak negatif radikal bebas dapat dicegah.^{6,12} Selain asam klorogenat, kafein juga memiliki peran sebagai antioksidan dan juga meningkatkan motilitas spermatozoa. Kafein dapat menghambat enzim fosfodiesterase sehingga akan meningkatkan produksi cAMP dalam sel yang akan merangsang motilitas spermatozoa. Kafein juga memiliki kemampuan untuk merangsang secara langsung motilitas spermatozoa.^{9,12} Oleh karena kandungan utama pada kopi ini, maka motilitas spermatozoa yang menurun akibat paparan sinar UV akan mampu diperbaiki dan dicegah kerusakan lebih lanjut baik dengan menyeimbangkan antioksidan dan oksidan serta dengan merangsang motilitas spermatozoa secara langsung.

Selanjutnya, rerata P2 memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan P1 dimana hal ini menunjukkan bahwa dosis yang meningkat menyebabkan persentase motilitas spermatozoa meningkat pula. Walaupun demikian, dari hasil uji *Post-Hoc* LSD antara kelompok P1 dan P2 memiliki nilai $p=0,066$. Oleh karena hal itu, dapat dinyatakan bahwa pemberian dosis bertingkat menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan terhadap motilitas spermatozoa.

Kelompok P1 merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan sinar UV dan diberi kopi 180mg/3ml. Dosis ini setara dengan satu cangkir kopi. Sedangkan kelompok P2

merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan sinar UV dan diberi kopi 360mg/3ml. Dosis ini setara dengan dua cangkir kopi. Motilitas spermatozoa akan meningkat pada orang yang mengkonsumsi 1-2 cangkir kopi.¹⁴ Dengan analisis statistik hasil motilitas P2 lebih tinggi daripada P1 akan tetapi perbedaan di antara keduanya tidak bermakna.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan yaitu terdapat perbedaan yang signifikan pada pengaruh motilitas spermatozoa tikus wistar yang diberi paparan sinar ultraviolet dan diberi kopi dengan tikus wistar yang diberi paparan sinar ultraviolet tanpa pemberian kopi.

Saran

Penelitian seperti ini perlu dilakukan lebih lanjut dengan pemberian dosis yang lebih bervariasi untuk menentukan kisaran dosis yang memberikan efek klinis. Selain itu, perlu dilakukan dengan membandingkan dengan kopi jenis lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO | Infertility definitions and terminology. World Health Organization; [cited 2015 Dec 5]; Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/definitions/en/>
2. WHO | Global prevalence of infertility, infecundity and childlessness. World Health Organization; [cited 2015 Dec 5]; Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/burden/en/>
3. Upcoming Events – Kongres Nasional Indonesia Gynecology Endoscopy Society (IGES) 4 – POGI [Internet]. [cited 2015 Dec 5]. Available from: <http://pogi.or.id/publish/acara/kongres-nasional-indonesia-gynecology-endoscopy-society-iges-4/>
4. HIFERI, PERFITRI, IAUI, POGI. Konsensus Penanganan Infertilitas. 2013;
5. Mead MN. Benefits of sunlight: a bright spot for human health. Environ Health Perspect [Internet]. 2008 Apr [cited 2015 Dec 20];116(4):A160–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2290997&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

6. Amaral S, Redmann K, Sanchez V, Mallidis C, Ramalho-Santos J, Schlatt S. UVB irradiation as a tool to assess ROS-induced damage in human spermatozoa. *Andrology* [Internet]. 2013;1(5):707–14. [cited 2015 Dec 20] Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23836725>
7. Dja'afara AL, Wantouw B, Tendean L. Pengaruh Pemberian Kopi terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Rokok. 2015;3:3–7.
8. Lelyana R. Pengaruh Kopi terhadap Kadar Asam Urat Darah. 2008;
9. Administration UF and D. Medicines in my home: caffeine and your body. *US Food Drug Adm Silver Spring* [Internet]. 2007; Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Medicines+in+my+Home++Caffeine+and+Your+Body#0>
10. Gutiérrez-Grobe Y, Chávez-Tapia N, Sánchez-Valle V, Gavilanes-Espinar JG, Ponciano-Rodríguez G, Uribe M, et al. High coffee intake is associated with lower grade nonalcoholic fatty liver disease: the role of peripheral antioxidant activity. *Ann Hepatol* [Internet]. 2012;11(3):350–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22481454>
11. Arief S. Radikal Bebas. *Ilmu Kesehat Anak FK UNAIR/RSU Dr Soetomo*. 2007;1–9.
12. Panghiyangani R, Mashuri. Kualitas Spermatozoa dan Aktivitas Enzim Katalase dalam Darah Tikus Jantan Galur Sprague Dawley (SD) yang Diradiasi Sinar Ultraviolet. 2009;1(1):4–7.
13. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int*. 2010;2011:686137.
14. Weinberg, Bennet Alan Bealer BK. *The Miracle of Caffeine : manfaat tak terduga kafein berdasarkan penelitian paling mutakhir*. Bandung: Qanita; 2010.